

トウモロコシ種子のヘミセルロース分解菌について その菌学的性質 (其の一)

(昭和41年11月15日受理)

大宮 満男* 土居 君子* 小川サチヨ**

Studies on the hydrolytic Bacteria of corn Seed Hemicellulose. Part 1. Microbiological Studies.

Mitsuo OOMIYA, Kimiko DOI and Sachiyo OGAWA

緒 言

ヘミセルロースは、植物細胞膜の一成分で、1891年 Schulze によって命名され、化学的には多糖類に属している。生体中のヘミセルロースの働きに関しては、その発見以来、幾多の研究がなされたのにもかかわらず、今だに定説がないような状態である。近年セルロースの研究は、急速に進歩し、これと関連の深い、ヘミセルロースの生化学的研究についても、研究の進展がのぞまれているような次第である。ヘミセルロース分解酵素ヘミセルラーゼの主要な作用は、その複雑な構造中の、キシロースの $\beta-1:4$ 結合の切断であるが、この酵素の給源をなす微生物として、糸状菌、細菌、酵母が知られている。

先に我々は、トウモロコシの種子に附着している嫌気性細菌 *Diplococcus* の一菌株を分離しその菌体外酵素によってトウモロコシ種子のヘミセルロースが分解され、虫喰穴開の原因をつくっていることを明らかにし¹⁾、その菌株が *Diplococcus* 属の一種であることまで究明していたので、今回更に進めて種の研究にはいり、この菌株について菌学的性質をしらべたのでその結果を報告する。

実 験 の 部

実験方法²⁾及び結果

〔1〕 種 菌

* 長崎大学教育学部家政科教室

** 鶴鳴女子短大

前に純粋分離された菌株¹⁾をグルコース (4%) 肉汁培養基 (pH 8 炭石入り) に2~3日おきに移植して排気法により嫌気培養 (37°C) したものを使用した。

〔2〕 培 養

(1) 液体培養 (排気法による培養 37°C)

a) グルコース (4%) 肉汁に種菌より, 2白金耳接種すると, 1~3日位で液はわずかに白く混濁する程度であり, 4日以後もあまり変化は見られない。

b) ヘミセルロース³⁾肉汁: グルコース肉汁よりも繁殖は盛んで, 2日位でチョーク状の白色沈滓を生じ, その濁りぐあいを, 光電比色計の透過率 (T) で示すと (図1) のようになった。

(図1) はヘミセルロース (0.5%) 肉汁 (排気法による嫌気培養 37°C) の増殖曲線を示す。

横軸は期間を示し, 縦軸は (100-透過率 T) 菌の増殖の模様と pH の変化を示す。グルコースの場合はヘミセルロースの場合よりも繁殖が劣っていることが明らかである。

(図2) はヘミセルロースの濃度をかえた場合の実験例である。0.4%の場合は50°Cの場合についてもおこなった。この図から明らかなように本菌の繁殖にはヘミセルロースが有効なことが明瞭となった。温度は50°Cよりも37°Cの方が有効なこともわかった。

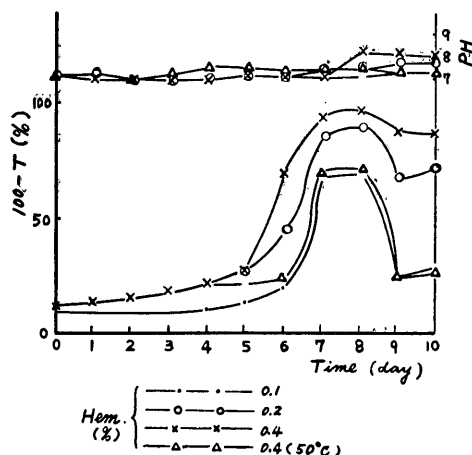


図2 ヘミセルロース肉汁培養基に於ける供試菌の増殖曲線

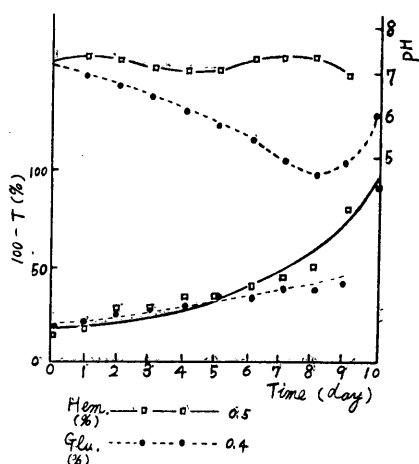


図1 ヘミセルロース肉汁培養基に於ける供試菌の増殖曲線 (グルコースの場合も含む)

c) 肉汁: 殆んど繁殖しない。

d) リトマスミルク: 48時間で赤色に変化し凝固が認められた。

(2) 固体培養

a) 平面培養 (37°C)

グルコース (2%) 肉汁寒天: 嫌気下1日で0.5~1mmのコロニー生成, 中部及び深部に生じ形は円形, 周辺はなめらかで灰白色, しめっぽい。

b) 斜面培養 (37°C)

グルコース (2%) 肉汁寒天: 嫌気下3日で接種線上に白く繁殖。

馬鈴薯：繁殖しない。

c) 穿刺培養 (25°C)

グルコース (2%) 肉汁ゼラチン：繁殖しない。

〔3〕 形 態

(1) 大きさ, 形態

グルコース (4%) 肉汁 (37°C 排気法による嫌気培養) 24時間培養 : 0.7~0.8 μ 双球状の細胞, 単独又は5個程度連結のものもある。

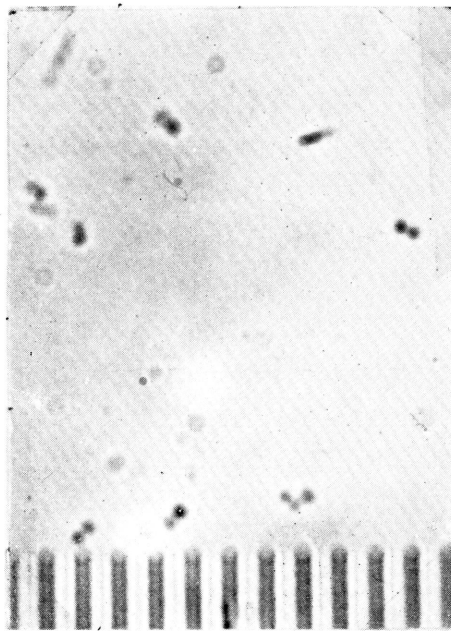


図 3 顕微鏡写真 (600倍) を拡大する

(2) 運動性：なし

(3) 染色性：グラム染色は陽性

〔4〕 生 理

(1) 硝酸塩の還元性：(—)

(2) カタラーゼ反応：(—)

(3) 乳酸生成：(+)

(4) ゼラチン液化：液化しない。

(5) リトマスミルク：(+)

(6) pH：最適pH 8, 繁殖容易範囲 7, 8, 9

(7) 温度：適温 37°C

(8) 好嫌気性：通性嫌気性

考 察

以上の諸性質から Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7版(1957年)⁴⁾によって類縁を求めた。

表 1 供試菌と *Diplococcus pneumonia* の比較

	供 試 菌	<i>Diplococcus pneumonia</i> の基準
形	双球菌 時にはこれが短い鎖状になっている事がある。	対になった卵形か或いは球形を呈する、時には単独か又は短い鎖状である。
大 き さ	0.7~0.8 μ	0.5~1.25 μ
染 色	グラム染色 +	グラム染色 +
ゼラチン穿刺培養	3週間目 表面がくぼみはじめるがこれは水分蒸発によるものである。したがって液化しない。	糸状、念珠状に成長する液化しない。
コ ロ ニ ー	円形 灰白色 湿潤で大きさ0.5~1mmである。コロニーの周囲緑色の帯状のものなし。	全体が小さく透明で灰色で光沢があり水ぼくなるコロニーの周囲に緑色の帯状のものを形成する。
液 体 培 養	肉汁培養基 ほとんど繁殖しない。グルコース肉汁培養基繁殖する。ヘミセルロースを入れた方が更に繁殖がよい。	肉エキス培養は不規則な成長をする。グルコース、血清腹水の増加は成長をます。
酸 素	通性嫌気性菌	通性好気性菌
温 度	37°C	37°C (18~22°Cの間は成長しない)
pH	pH 8 繁殖がよい。	pH 7.8
リトマスミルク	2日培養赤変凝固する。	酸で凝固する。
馬 鈴 薯 培 養 基	成長しない。	成長しない。
運 動 性	運動性なし。	運動性なし。

以上のように *Diplococcus pneumonia* とよく類似している。コロニーの周囲に緑色の帯状の着色がないなど、記載とあわない点があり、イヌリン血清液では酸の凝固がある等の項目は未実験であるが、殆どどの項目において一致をみたので、供試菌は *Diplococcus pneumonia* 近縁のものではないかと考え尙研究継続中である。

総 括

トウモロコシの種子の虫喰穴開をおこす嫌気性 *Diplococcus* 菌の菌学的性質を検した結果 *Diplococcus pneumonia* の近縁のものであると思われるが、まだ十分な結果がでていないのではっきり断定はできない。

文 献

- 1) 大宮：熊大教紀，第13号，第1分冊，5～10 (1965)
- 2) 東大農化教室：実験農芸化学（上）（朝倉），1961，P186～252
- 3) 大宮：熊大教紀，第10号，第1分冊，24 (1962)
- 4) R. S. Breed: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7th ed. (Williams and Willkins Co.) 1957, P507

本実験には40年度卒論学生の垣内恵子，木下功子，瀬川治子並びに41年度卒論学生木平勝代，平野スミエ，森静子の諸嬢が協力した。記して感謝する。

Summary

The hydrolytic bacteria of corn seed hemicellulose was isolated from the same origin of corn seed by one of authors (1964).

It was recognized as a strain of genus *Diplococcus* at that time.

Its morphological and physiological characteristics were studied.

Results as following:

1. Vegetable cell: diplococcus, 0.7～0.8 micron.
2. Motility: non-motile.
3. Gram positive.
4. Gelatin liquefaction: (－).
5. Glucose bouillon agar colonies: entire, 0.5～1mm, graysh white, mucoid to watery.
6. Bouillon broth: (－).
7. Glucose bouillon broth: growth, addition of hemicellulose enhances growth.
8. Aerobic: unaerobic fucultative.
9. Optimum temperture: 37°C.
10. Litmus milk: usually acid with coagulation.
11. Potato: no growth.